



PCT/FR 03/03917

REC'D 22 MAR 2004

WIPO PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 31 DEC. 2003

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



DÉPÔT EASY

BREVET D'INVENTION

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: 26 DEC. 2002 N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: 02-16722 DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: 02-16722 DATE DE DÉPÔT: 26 DEC. 2002 INPI LYON	Dominique GUERRE Cabinet GERMAIN & MAUREAU 12 rue Boileau 69006 LYON France
Vos références pour ce dossier: DOG/SL/BR041025	

1 NATURE DE LA DEMANDE	
Demande de brevet	
2 TITRE DE L'INVENTION	
	Composition trophique en milieu aqueux, et ses applications, notamment en ophtalmologie
3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE	Pays ou organisation Date N°
4-1 DEMANDEUR	
Nom	THOREL
Prénom	Jean-Noël
Rue	3 rue La Rochelle
Code postal et ville	75014 PARIS
Pays	France
Nationalité	France
4-2 DEMANDEUR	
Nom	GATTO
Prénom	Hugues
Rue	1, Rue du Plan de Castres
Code postal et ville	06570 SAINT-PAUL
Pays	France
Nationalité	France

5A MANDATAIRE			
Nom	GUERRE		
Prénom	Dominique		
Qualité	CPI: 921104		
Cabinet ou Société	Cabinet GERMAIN & MAUREAU		
Rue	12 rue Boileau		
Code postal et ville	69006 LYON		
N° de téléphone	04.72.69.84.30		
N° de télécopie	04.72.69.84.31		
Courrier électronique	dominique.guerre@germainmaureau.com		
6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS			
	Fichier électronique	Pages	Détails
Description	desc.pdf	16	
Revendications	V	3	19
Abrégé	V	1	
Désignation d'inventeurs			
Listage des sequences, PDF			
Rapport de recherche			
Chèque		1 doc.	0679976
7 MODE DE PAIEMENT			
Mode de paiement	Remise d'un chèque		
Numéro de chèque	0679976		
Remboursement à effectuer sur le compte n°	332		
8 RAPPORT DE RECHERCHE			
Etablissement immédiat			
9 REDEVANCES JOINTES			
	Devise	Taux	Quantité
062 Dépôt	EURO	35.00	1.00
063 Rapport de recherche (R.R.)	EURO	320.00	1.00
068 Revendication à partir de la 11ème	EURO	15.00	9.00
Total à acquitter	EURO		490.00
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE			
Signé par	Dominique GUERRE		
	Dominique GUERRE CPI 921104		

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

5 La présente invention concerne une composition trophique en milieu aqueux, et ses diverses applications, en particulier en ophtalmologie, aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Plus particulièrement, la présente invention s'intéresse aux compositions trophiques comprenant une base nutritive complexe.

10 Par base nutritive complexe, on entend toute composition ou formulation, en milieu aqueux, se distinguant, comme précisé ci-après, d'un milieu de culture cellulaire, même si elle permet, en général, comme ce dernier, une culture in vitro viable pendant au moins 72 heures d'un inoculum de certaines cellules prédéterminées.

15 Différents milieux de cultures ont été effectivement décrits, et sont commercialisés. Ainsi, s'agissant de la culture in vitro de kératinocytes, on peut citer :

- BOYCE ST, HAM RG, Calcium-regulated differentiation of normal human epidermal keratinocytes in defined clonal culture and serum-free serial culture ; J. Invest. Dermatol. 1983; 81: 335-409 ;

20 - BOYCE ST, HAM RG, Cultivation, frozen storage, and clonal growth of normal human epidermal keratinocytes in serum-free media. ; J. Tissue Culture Methods 1985 ; 9 : 83-93 ;

- le milieu commercial dénommé MCDB 153, commercialisé notamment par les Sociétés IRVINE SCIENTIFIC et GIBCO-BRL ;

25 - les milieux commerciaux dénommés DMEM (DUBECO Modified Epidermal Medium) ; KSFM de GIBCO-BRL, etc...

De tels milieux de cultures incorporent, pour être actifs, des facteurs de croissance cellulaire, soit que ces facteurs sont compris au départ dans la composition du milieu de culture, soit que ces facteurs sont produits au moment de la culture, par exemple par une couche nourricière de fibroblastes, s'agissant de la culture de kératinocytes.

30 Une base nutritive complexe, telle que considérée selon la présente invention, ne comporte pas dans sa mise en œuvre de facteur de croissance, par exemple, d'EGF (Epidermal Growth Factor).

Beaucoup des milieux de culture précédemment identifiés comportent des extraits biologiques, par exemple d'origine animale, cellulaire, ou autre, c'est-à-dire obtenus à partir d'une matière première biologique. Au rang de ces extraits biologiques, on peut citer, à titre d'exemple, tout sérum de veau foetal, tout extrait de tige pituitaire de bœuf.

Par nature, ces extraits ont une composition variable, voire indéterminée.

Une base nutritive complexe, telle que considérée selon la présente invention, ne comporte aucun extrait biologique tel que défini précédemment.

Ces mêmes milieux de culture précédemment identifiés comprennent, dans certains cas, différents principes actifs thérapeutiques, utilisés en tant que médicaments, et ce pour favoriser la conservation, et/ou, l'efficacité du milieu de culture.

Au rang de ces principes actifs, on peut citer certains antibiotiques, par exemple la pénicilline et/ou la streptomycine, seules ou en mélange, certaines hormones, par exemple la toxine cholérique, l'insuline.

Une base nutritive complexe, considérée selon la présente invention, ne comporte pas de principe actif médicamenteux.

De telles bases nutritives complexes, au sens où celles-ci peuvent être utilisées, seules ou en combinaison avec d'autres composants, en tant que produit actif ou comme excipient, ont été décrites dans le document WO 96/21421.

De telles bases nutritives complexes sont constituées en milieu aqueux par au moins, une multiplicité d'acides aminés, dont certains essentiels, différentes vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques.

Conformément au document WO 96/21421, une telle base nutritive complexe a, par exemple, la composition suivante, selon Tableau 1 ci-après :

Tableau 1

COMPOSANTS	Concentration en mg/l
Eau	q.s.p.
<u>Acides aminés</u>	
L-Alanine	9,2
L-Arginine HCL	421,4

COMPOSANTS	Concentration en mg/l
Acides aminés (suite)	
L-Asparagine (anhydre)	14,2
Acide L-aspartique	4,0
L-Cystéine HCl. H ₂ O	42,0
Acide L-glutamique	14,8
L-Glutamine	1754,4
Glycine	7,6
L-Histidine HCl. H ₂ O	50,0
L-Isoleucine	6,0
L-Leucine	131,2
L-Lysine HCl	54,0
L-Méthionine	13,5
L-Phénylalanine	10,0
L-Proline	34,6
L-Sérine	126,1
L-Thréonine	24,0
L-Tryptophane	9,3
L-Tyrosine 2 Na 2H ₂ O	11,7
L-Valine	70,3
Vitamines	
d-Biotine	0,02
Acide folique	0,80
Nicotinamide	0,04
D-Ca Pantothénate	0,30
Pyridoxine HCl	0,06
Riboflavine	0,04
Thiamine HCl	0,30
i-Inositol	18,0
Pyruvate de sodium	55,0
Thymidine	0,73
Adénine (HCl)	24,0
Acide DL-lipoïque	0,20
Composants inorganiques	
Chlorure de sodium	6800,0
KCl	112,0
Na ₂ HPO ₄	284,0
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,003
Acétate de sodium	300,0
D-Glucose	(anhydre) 1080,0
HEPES (pipérazine)	6600,0
Phosphoryléthanolamine	0,06768
Ethanolamine	0,04684
Sulfate de sodium	3,4
Bicarbonate de sodium	1160,0
FeSO ₄ .7H ₂ O	1,39
MgCl ₂ .6H ₂ O	120,0
CaCl ₂ .2H ₂ O	De 13,0 à 22,05
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,144
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,00120
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O	0,142

COMPOSANTS	Concentration en mg/l
Composants inorganiques (suite)	
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,00002
SnCl ₂ .2H ₂ O	0,00011
NH ₄ VO ₃	0,00057

La présente invention a pour objet une composition trophique comprenant une base nutritive complexe, telle que précédemment définie, permettant en particulier d'améliorer la viabilité, par exemple en cas d'agression ou de stress, et de maintenir l'intégrité et l'équilibre des cellules épithéliales de la cornée de l'œil, chez l'homme ou l'animal.

Plus particulièrement, la présente invention a pour objet une composition trophique permettant d'améliorer la viabilité, la croissance, et la différenciation des cellules de l'épithélium cornéen, chez l'homme ou l'animal.

Conformément à la présente invention, la composition trophique en milieu aqueux comprend une base nutritive complexe, constituée, au moins, par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base excluant tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, et ladite composition est caractérisée en ce que :

- outre la base nutritive complexe, elle est constituée par un inhibiteur des collagénases de l'épithélium cornéen chez l'homme ou l'animal, et par un promoteur de la synthèse du néocollagène ;
- elle est formulée, avec la base nutritive complexe, pour établir un pH compris entre 7,3 et 7,5, et une osmolarité comprise entre 300 et 350 mOsm.

Selon l'invention, la composition trophique présente avantageusement les caractéristiques suivantes, ces dernières étant considérées seules ou en combinaison :

- l'inhibiteur des collagénases est choisi dans le groupe constitué par la cystéine, la N-acétyl cystéine, et le sel de calcium de l'EDTA ;
- l'inhibiteur des collagénases est la N-acétyl cystéine ;
- l'inhibiteur des collagénases représente au maximum 5 %, et de préférence entre 0,05 et 0,5 % en poids de ladite composition ;
- le promoteur de la synthèse du néocollagène est la proline ou l'hydroxyproline ;

- le promoteur de la synthèse du néocollagène représente au maximum 0,5 %, et de préférence 0,004 % en poids de ladite composition ;
- la composition trophique comprend de l'acide hyaluronique, et/ou un sel de l'acide hyaluronique, dans une proportion pondérale totale de la composition, au plus égale à 0,1 %, et de préférence égale à 0,07 % ;
- la composition trophique comprend un conservateur, dans une proportion pondérale de la composition, au plus égale à 0,0001 % ;
- le conservateur est le polyhexanide ou polyhexaméthylène biguanide (PHMB) ;
- la composition trophique répond à la formule décrite par le Tableau 2 dans la description.

L'invention concerne également l'utilisation d'une composition telle que précédemment décrite en tant que médicament, par exemple en ophtalmologie ou contactologie, chez l'homme ou l'animal.

Elle concerne également un médicament, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'invention, sous forme liquide, ou sous forme sèche, c'est-à-dire pour reconstitution avec un milieu aqueux.

Dans une variante, le médicament est sous forme liquide, pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou l'animal.

Dans une autre variante, le médicament tel que précédemment décrit, est sous la forme de gouttes, ou de larmes régénérantes, ou de collyre, ou de solution.

Ainsi, la présente invention propose un collyre comprenant une composition trophique telle que définie précédemment, permettant de cicatiser la cornée, ou pour prévenir les adhérences conjonctivales.

Un tel collyre a les indications suivantes :

- ulcérations cornéennes d'origine traumatique ou autre, brûlures de la cornée ;
- prévention des adhérences conjonctivales et cornéo-conjonctivales (sympbléphon) ;
- xerosis conjonctival et cornéen.

L'invention concerne également une solution de confort pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou chez l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'invention.

Ainsi, la présente invention propose, par exemple, « des larmes régénérantes », comprenant une composition trophique telle que définie précédemment, pour l'hydratation de lentilles de contact et la régénération de la cornée, chez l'homme ou l'animal.

5 De telles « larmes régénérantes » lubrifient accessoirement la cornée. En définitive, elles évitent ou limitent l'érosion prématurée de la cornée, sous l'action de lentilles de contact, rigides ou semi-rigides en particulier. Et ces « larmes régénérantes » améliorent le confort visuel, et augmentent la durée de port possible de lentilles de contact.

10 Ainsi, la présente invention propose, par exemple, des gouttes de confort, pour les utilisations suivantes :

- sécheresses oculaires d'origine iatrogène (liées notamment à l'emploi de rétinoïdes topiques ou systémiques d'antihistaminiques, d'antiparkinsoniens, de betabloquants, de spasmolytiques, d'anxiolytiques, de neuroleptiques, d'antidépresseurs et de bronchodilatateurs, etc...), et
- 15 entraînant un inconfort, en particulier chez les patients porteurs de lentilles de contact ;
- sécheresses oculaires chez les personnes âgées.

L'invention concerne également l'utilisation d'une composition
20 selon l'invention pour la conservation de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal.

Elle concerne également une solution pour la conservation, le stockage, ou le transport de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de
25 contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'invention.

L'invention concerne également l'utilisation d'une base nutritive complexe en milieu aqueux, constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base
30 excluant tout facteur de croissance cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, en tant que médicament ophtalmologique.

Elle concerne également l'utilisation d'une base nutritive complexe en milieu aqueux, constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés,
35 des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base excluant tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait d'origine biologique ou

Ainsi, la présente invention propose, par exemple, « des larmes régénérantes », comprenant une composition trophique telle que définie précédemment, pour l'hydratation de lentilles de contact et la régénération de la cornée, chez l'homme ou l'animal.

5 De telles « larmes régénérantes » lubrifient accessoirement la cornée. En définitive, elles évitent ou limitent l'érosion prématurée de la cornée, sous l'action de lentilles de contact, rigides ou semi-rigides en particulier. Et ces « larmes régénérantes » améliorent le confort visuel, et augmentent la durée de port possible de lentilles de contact.

10 Ainsi, la présente invention propose, par exemple, des gouttes de confort, pour les utilisations suivantes :

- sécheresses oculaires d'origine iatrogène (liées notamment à l'emploi de rétinoïdes topiques ou systémiques d'antihistaminiques, d'antiparkinsoniens, de betabloquants, de spasmolytiques, d'anxiolytiques, de neuroleptiques, d'antidépresseurs et de bronchodilatateurs, etc...), et entraînant un inconfort, en particulier chez les patients porteurs de lentilles de contact ;
- sécheresses oculaires chez les personnes âgées.

L'invention concerne également l'utilisation d'une composition selon l'invention pour la conservation de pièces ou prothèses, par exemple 20 lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal.

Elle concerne également une solution pour la conservation, le stockage, ou le transport de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, 25 chez l'homme ou l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'invention.

L'invention concerne également l'utilisation d'une base nutritive complexe en milieu aqueux, constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base 30 excluant tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, en tant que médicament ophtalmologique.

Elle concerne également l'utilisation d'une base nutritive complexe en milieu aqueux, constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, 35 des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base excluant tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait d'origine biologique ou

cellulaire, et tout principe actif médicamenteux, en tant que produit pour le stockage, le transport et la mise en œuvre de pièces, par exemple lentilles de contact, destinées à venir au contact de l'œil.

- Grâce à une composition trophique selon la présente invention, et
 5 comme démontré par les études exposées ci-après, les propriétés intrinsèques primaires de l'épithélium cornéen sont préservées durablement, tout en augmentant sa résistance aux agressions, et favorisant, le cas échéant, son retour à un état d'équilibre.

- La présente invention est maintenant décrite et exemplifiée, à partir
 10 d'une composition trophique en milieu aqueux, ayant la formule selon Tableau 2.

Tableau 2

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l	NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
1	EAU	q.s.p.	31	ACIDE ASPARTIQUE	4,0
2	CHLORURE DE SODIUM	6800	32	SODIUM SULFATE	3,4
3	GLUTAMINE	1754,4	33	SULFATE FERREUX	0,003
4	SODIUM BICARBONATE	1160	34	ACIDE FOLIQUE	0,8
5	GLUCOSE	1080	35	THYMIDINE	0,73
6	ARGININE HCL	421,4	36	CYANOCOBALAMINE	0,41
7	SODIUM ACETATE	300	37	CALCIUM PANTOTHENATE	0,3
8	DISODIUM PHOSPHATE	284	38	THIAMINE HCL	0,3
9	LEUCINE	131,2	39	ACIDE THIOCTIQUE	0,3
10	SERINE	126,1	40	ZINC SULFATE	0,144
11	CHLORURE DE Mg	120,0	41	SODIUM SILICATE	0,142
12	CHLORURE DE K	112	42	PYRIDOXINE HCL	0,06
13	VALINE	70,3	43	NIACINAMIDE	0,04
14	SODIUM PYRUVATE	55	44	RIBOFLAVIN	0,3
15	LYSINE HCL	54	45	BIOTIN	0,02
16	HISTIDINE HCL	50	46	SULFATE DE CUIVRE	0,003
17	CYSTEINE HCL	42	47	AMMONIUM MOLYBDATE	0,00120
18	ADENINE	24	48	AMMONIUM VANADATE	0,003
19	THREONINE	24	49	CHLORURE DE Mn	0,00002
20	CHLORURE DE Ca	20,05	50	HYALURONATE DE SODIUM	70
21	INOSITOL	18	51	POLYHEXANIDE ou POLYHEXAMETHYLENE BIGUANIDE	0,1
22	ACIDE GLUTAMIQUE	14,8	52	N-ACETYL-CYSTEINE	500
23	ASPARAGINE	14,2	53	HYDROXYPROLINE ou PROLINE	35
24	METHIONINE	13,5			
25	TYROSINE	11,7			
26	PHENYLALANINE	10,0			
27	TRYPTOPHANE	9,3			
28	ALANINE	9,2			
29	GLYCINE	7,6			
30	ISOLEUCINE	6,0			

Conformément à la définition selon la présente invention de la composition trophique, les ingrédients en milieu aqueux de la base nutritive

complexe sont tous ceux numérotés de 1 à 49, tandis que les ingrédients 50 à 53 sont considérés comme extérieurs à la base nutritive complexe, et permettent son adaptation à un contact externe avec l'épithélium de la cornée de l'œil.

5 Les ingrédients 50 et 51 sont optionnels, en fonction du rôle ou de la fonction recherchée pour la composition trophique.

Par ailleurs, le choix et les proportions des différents ingrédients sont définis pour établir dans la composition trophique finalement obtenue :

10 - un pH compris entre 7,3 et 7,5, et préférentiellement compris entre 7,42 et 7,45 (pH favorisant l'oxygénation de l'épithélium cornéen et l'activité du lyzosome des larmes).

- une osmolarité comprise entre 300 et 350 mOsm, et par exemple, égale à 340 mOsm.

15 Etude n°1

On évalue la biocompatibilité de la composition trophique précédemment définie sur un modèle d'épithélium de cornée humain reconstitué.

20 A partir de la formule selon Tableau 2, on définit et formule quatre variantes, appelées respectivement :

- EVE 1 : sans Hyaluronate de sodium (ingrédient 50) et sans conservateur (ingrédient 51).
- 25 EVE 2 : sans Hyaluronate de sodium (ingrédient 50) et avec conservateur (ingrédient 51).
- EVE 3 : avec Hyaluronate de sodium (ingrédient 50) et sans conservateur (ingrédient 51).
- 30 EVE 4 : identique à la formule selon Tableau 2, et donc avec Hyaluronate de sodium (ingrédient 50), et avec conservateur (ingrédient 51).

Des ajustements minimes des autres ingrédients sont apportés, pour maintenir le pH et l'osmolarité dans les valeurs précédemment énoncées.

35 La cytocompatibilité des formules EVE 1 à EVE 4 est évaluée par application topique sur un modèle in vitro d'épithélium de cornée humaine

reconstruit, tel que disponible auprès de la Société SKINETHIC LABORATORIES, 45 Rue Saint Philippe, 06000 NICE, France.

Roger W. BEUERMAN et Lia PEDROSA ont décrit, par le détail, l'ultra-structure de la cornée humaine, dans un article intitulé « Ultra-structure of the human cornea », dans le journal « Microscopy Research and Technique », 33 : 320-335 (1996), et on s'y référera en tant que de besoin.

A partir de la structure naturelle, O. DOUCET et al. ont proposé et décrit un épithélium de cornée humaine, tridimensionnel, reconstruit, en particulier pour effectuer différents essais in vitro de toxicité ; cf. l'article ayant pour titre « A new in vitro human epithelium model for assessing the eye irritation potential of formulated cosmetic products », paru dans « In vitro and Molecular Toxicology », 11, 4 : 273-283 (1998).

Cet épithélium de cornée reconstruit, ou modèle, est obtenu par culture de cellules épithéliales de cornée, par exemple la lignée HCE, disponible et commercialisée par LSU Eye Center, Louisiana State University School of Medicine, New Orleans, Louisiana, 70112 USA. Les cellules épithéliales sont cultivées à l'interface air/liquide dans un milieu défini, et elles forment un tissu épithélial cornéen, dépourvu de stratum corneum, s'approchant de l'épithélium cornéen in vivo.

L'étude est réalisée sur de tels épithéliums cornéens reconstruits, tels qu'obtenus au 5^{ème} jour de culture (taille : 0,5 cm²), le contrôle qualité des différents épithéliums aux différents stade de culture étant assuré par la Société SKINETHIC LABORATORIES, précitée, conformément à la publication dernière citée.

Le principe du test consiste à appliquer la composition trophique directement au contact de l'épithélium cornéen reconstruit, 15 minutes trois fois par jour sur une période de 7 jours. On réalise en parallèle un témoin épithélium cornéen non traité. Chaque condition (à l'exception du témoin non traité) est réalisée en double. Aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours d'expérimentation, la viabilité cellulaire (test au MTT) est évaluée pour chacune des conditions.

En pratique, 30 µl des compositions trophiques à tester sont déposés 3 fois par jour (à 9 h, 13 h et à 17 h), directement à la surface des équivalents cornéens, pendant 15 minutes. Après cette période de contact, les compositions en excès sont éliminées et les épithéliums maintenus en incubation à 37°C sous atmosphère humide, 5 % CO₂. Cette opération est répétée tous les jours pendant 7 jours. Aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours

d'expérimentation, les épithéliums reconstruits sont prélevés pour effectuer le test de viabilité cellulaire.

Aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours d'expérimentation, les épithéliums prélevés sont rincés au PBS et placés dans 300 µl de MTT (0,5 mg/ml). Après 3 heures d'incubation à 37°C, 5 % CO₂, les épithéliums sont transférés dans 1,5 ml d'isopropanol. L'extraction du produit de clivage du MTT est réalisée sous légère agitation, pendant 2 heures à température ambiante. La densité optique à 570 nm est ensuite mesurée sur 200 µl de solution, d'extraction. Les résultats sont exprimés en pourcentage de viabilité par rapport au témoin (non traité) :

$$\% \text{ viabilité} = [\text{DO}_{(570 \text{ nm produit testé})} / \text{DO}_{(570 \text{ nm témoin})}] \times 100$$

Dans les conditions expérimentales ainsi définies, on observe un maintien total de la viabilité *in vitro* des épithéliums de cornée humaine reconstruits, après application topique de chacune des compositions trophiques précitées. La présence du conservateur et de l'acide hyaluronique aux concentrations d'utilisation ainsi définies n'influe pas sur la viabilité cellulaire des épithéliums qui est maintenue.

20 Etude n°2

Par mise en culture d'un épithélium de cornée humaine reconstitué, dans les compositions trophiques précédemment définies, on compare les résultats obtenus par rapport à ceux obtenus par mise en culture dans une solution saline tamponnée.

25 Le modèle d'épithélium cornéen retenu est à l'identique de celui décrit et défini dans l'Etude n°1, mis en culture pendant 72 heures dans la composition trophique étudiée.

Une seule composition trophique est retenue pour cette étude, à savoir celle définie par le Tableau 2, appelée EVE 4 dans l'Etude n°1.

30 Dès réception des épithéliums, le milieu nutritif de transport SKINETHIC est éliminé et remplacé, pour un des épithéliums, par 1 ml de la composition trophique étudiée. Un second épithélium est placé, pour comparaison, dans une solution saline tamponnée (Phosphate Buffered Saline, PBS, enrichi en Ca²⁺ et Mg²⁺). La cytocompatibilité de la composition trophique étudiée a été préalablement vérifiée (absence d'effet cytotoxique, cf. Etude précédente n°1). Les épithéliums sont maintenus en incubation à 37°C

sous atmosphère humide, 5 % CO₂. Les milieux sont renouvelés tous les jours. Après 3 jours de culture, les 2 épithéliums reconstruits sont prélevés pour effectuer une analyse histologique. Ils sont fixés par une solution de formaldéhyde à 10 % puis inclus dans la paraffine. L'histologie des coupes colorées à l'hématoxyline/éosine est évaluée en microscopie optique.

L'interprétation histopathologique des coupes prend en compte l'épaisseur et la régularité du tissu épithélial ainsi que la morphologie, la cohésion et la capacité des cellules à proliférer.

Concernant l'épithélium cultivé pendant 72 h dans la composition trophique, l'analyse du prélèvement montre un épithélium implanté sur le support membranaire. Il comporte 6 à 7 couches de cellules jointives (les ponts d'union sont visibles). Il n'y a pas de signe de nécrose ni de kératinisation de la couche superficielle.

Dans le cas de l'épithélium cultivé pendant 72 h dans une solution saline tamponnée, l'analyse du prélèvement montre une disparition quasi-totale de l'épithélium, seul le support est visible. Il n'y a pas de couche cellulaire identifiable.

Dans les conditions expérimentales définies pour cette étude, on observe la survie et la cohésion cellulaire d'un épithélium de cornée humain reconstruit, mis en culture pendant 72 h dans une composition trophique selon la présente invention. En comparaison, l'expérimentation similaire réalisée avec une solution saline tamponnée montre une dégénérescence complète de l'épithélium, qui n'est plus identifiable.

25 Etude n°3

On évalue les propriétés cicatrisantes de compositions trophiques selon l'invention, sur un modèle de cornée humaine reconstituée.

Les quatre variantes de la composition trophique étudiée sont identiques à celles définies et décrites dans l'Etude n°1.

30 Le modèle d'épithélium cornéen, reconstruit, est à l'identique de celui décrit et défini dans les Etudes n°1 et n°2.

Les propriétés cicatrisantes des compositions trophiques étudiées sont évaluées après application topique sur le modèle précité, sur lequel est réalisée au préalable une lésion par altération mécanique.

La réalisation des lésions à la surface des épithéliums cornéens reconstruits est opérée à l'aide de la pointe d'un scalpel partageant sur leur diamètre chacun des épithéliums.

Le principe du test consiste à appliquer, immédiatement après le traumatisme, la composition trophique directement au contact de l'épithélium cornéen reconstruit, 15 minutes trois fois par jour, et ce quotidiennement sur une période de 9 jours. On réalise en parallèle un contrôle avec une solution saline tamponnée (PBS). Aux 2^{ème}, 4^{ème}, 7^{ème} et 9^{ème} jours d'expérimentation, l'histologie du tissu reconstruit est évaluée pour chacune des conditions. Elle est comparée à l'histologie d'une condition témoin de référence correspondant à un épithélium non agressé non traité.

En pratique, 30 µl des compositions trophiques à tester sont déposés 3 fois par jour (à 9 h, 13 h et à 17 h) directement à la surface des épithéliums cornéens pendant 15 minutes. Après cette période de contact, les compositions en excès sont éliminées et les épithéliums maintenus en incubation à 37°C sous atmosphère humide, 5 % CO₂. Cette opération est répétée tous les jours pendant 9 jours. Aux 2^{ème}, 4^{ème}, 7^{ème} et 9^{ème} jours d'expérimentation, les épithéliums reconstruits sont prélevés pour effectuer l'analyse histologique.

Aux 2^{ème}, 4^{ème}, 7^{ème} et 9^{ème} jours d'expérimentation, les épithéliums sont fixés par une solution de formaldéhyde à 10 %, puis inclus dans la paraffine. L'histologie des coupes colorées à l'hématoxyline/éosine est évaluée en microscopie optique.

L'évaluation des propriétés cicatrisantes des compositions trophiques est réalisée par analyse histologique des coupes et observation de la réparation de l'épithélium au niveau de la lésion induite par le scalpel. La localisation des lésions est effectuée par marquage à l'encre de Chine à la surface des épithéliums cornéens, avant d'effectuer la coupe histologique (coupe transversale de l'épithélium).

L'interprétation histopathologique des coupes prend en compte l'épaisseur et la régularité du tissu épithélial, ainsi que la morphologie, la cohésion et la capacité des cellules à proliférer après le traumatisme opéré.

Des photographies regroupées établissent, pour chaque condition, les coupes transversales des épithéliums réalisées en début de traitement (2^{ème} jour après réalisation de la lésion) et au dernier jour de celui-ci (9^{ème} jour).

Dans le cas du Témoin (non traité, non agressé), on observe, au 2^{ème} jour de culture, un épithélium vivace composé de 6 à 7 couches de cellules, régulières dans leur forme (aspect pavimenteux), jointives. Au 9^{ème} jour de traitement, on observe un épaissement de l'épithélium formé d'une dizaine de couches de cellules, toujours jointives et régulières. On note la présence d'une couche kératinisée en surface.

Dans le cas du traitement avec EVE 4 (composition trophique selon Tableau 2), on observe, sur la photographie prise au 2^{ème} jour, la lésion réalisée au niveau de l'épithélium, mettant à nu le support membranaire. De part et d'autre de la plaie, l'épithélium est vivace. Il n'y a pas de kératinisation. Au 9^{ème} jour de traitement, on observe au niveau du repère réalisé à l'encre de Chine, un épithélium réparé, continu, formé de plusieurs couches de cellules relativement régulières (d'aspect plus arrondi que dans le cas du Témoin), non nécrosées. On note la présence d'une zone de kératinisation dans les couches superficielles.

Dans le cas du traitement avec une solution saline tamponnée (PBS), on visualise au 2^{ème} jour la zone lésée, marquée par une perte de substance importante au niveau de l'épithélium. Au 9^{ème} jour, on observe au niveau du repère un épithélium réparé, constitué de 5 à 6 couches de cellules seulement, d'aspect arrondi, turgescentes pour certaines, avec la présence de vacuoles.

Dans le cas du traitement avec les compositions dites EVE 1, EVE 2, EVE 3, on observe, pour les prélèvements réalisés au 2^{ème} jour d'expérimentation, la lésion repérée par une perte de substance totale. De part et d'autre, l'épithélium est pluristratifié, vivace et non kératinisé.

Au 9^{ème} jour, pour la formulation EVE 1, on observe un épithélium reconstitué, continu, formé de cellules arrondies, assez régulières avec présence de quelques vacuoles. Pour les formulations EVE 2 et EVE 3, les épithéliums ont un aspect identique, avec des cellules jointives et de morphologie régulière.

Cependant, l'épaisseur des épithéliums apparaît plus mince par rapport à celle des épithéliums traités par la formulation EVE 4.

Dans les conditions expérimentales ainsi définies, on observe pour chacune des conditions testées une réparation des épithéliums de cornée humains préalablement lésés, au terme des traitements.

La formulation EVE 4 (contenant acide hyaluronique et conservateur) permet d'obtenir les meilleurs résultats. L'épithélium réparé est continu, vivace, pluristratifié, composé de cellules jointives et régulières.

5 Etude n°4

On évalue les propriétés cicatrisantes de compositions trophiques selon la présente invention, en comparaison avec une solution saline tamponnée.

10 La composition trophique étudiée est à l'identique de celle définie par le Tableau 2.

Le modèle d'épithélium cornéen, reconstruit, est à l'identique de celui mis en œuvre dans les Etudes n°s 1 à 3.

15 Les propriétés cicatrisantes des compositions trophiques sont évaluées par application topique sur un modèle in vitro d'épithélium de cornée humain reconstruit, sur lequel est réalisée, au préalable, une lésion par traumatisme mécanique.

La réalisation des lésions à la surface des épithéliums cornéens reconstruits est opérée à l'aide de la pointe d'un scalpel partageant sur leur diamètre chacun des épithéliums.

20 Le principe du test consiste à appliquer, immédiatement après le traumatisme, la composition trophique directement au contact de l'épithélium cornéen reconstruit, 15 minutes trois fois par jour, et ce quotidiennement sur une période de 7 jours. On réalise en parallèle un contrôle en solution saline tamponnée (PBS enrichi en Ca^{2+} et Mg^{2+}). Aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours d'expérimentation, l'histologie du tissu reconstruit est évaluée pour chacune des conditions. Elle sera comparée à l'histologie d'une condition témoin de référence correspondant à un épithélium non agressé non traité.

30 En pratique, 30 μl des compositions à tester sont déposés 3 fois par jour (à 9 h, 13 h et à 17 h) directement à la surface des équivalents cornéens pendant 15 minutes. Après cette période de contact, les compositions en excès sont éliminées et les épithéliums maintenus en incubation à 37°C sous atmosphère humide, 5 % CO_2 . Cette opération est répétée tous les jours pendant 7 jours. Aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours d'expérimentation, les épithéliums reconstruits sont prélevés pour effectuer
35 l'analyse histologique.

Aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours d'expérimentation, les épithéliums sont fixés par une solution de formaldéhyde à 10 % puis inclus dans la paraffine. L'histologie des coupes colorées à l'hématoxyline/éosine est évaluée en microscopie optique.

5 L'évaluation des propriétés cicatrisantes des compositions trophiques est réalisée par analyse histologique des coupes et observation de la réparation de l'épithélium au niveau de la lésion induite par le scalpel. La localisation des lésions est effectuée par marquage à l'encre de Chine à la surface des épithéliums de cornée avant d'effectuer la coupe histologique

10 (coupe transversale de l'épithélium).

L'interprétation histopathologique des coupes prend en compte l'épaisseur et la régularité du tissu épithélial ainsi que la morphologie, la cohésion et la capacité des cellules à proliférer après le traumatisme opéré.

Des photographies établissent, pour chaque condition, les coupes transversales des épithéliums réalisées aux différentes étapes du traitement.

15 Dans le cas du Témoin (non traité, non agressé), on observe, au 2^{ème} jour de culture, un épithélium vivace composé de 6 à 7 couches de cellules, régulières dans leur forme (aspect pavimenteux), jointives. Au 7^{ème} jour de traitement, on observe un épaississement de l'épithélium formé d'une dizaine de couches de cellules, toujours jointives et régulières. On note la présence d'une couche kératinisée en surface.

Dans le cas du traitement avec la composition trophique selon tableau 2, on observe, sur la photographie prise au 2^{ème} jour, la lésion réalisée au niveau de l'épithélium mettant à nu le support membranaire. De part et d'autre de la plaie, l'épithélium est vivace. Il n'y a pas de kératinisation. Au 4^{ème} jour, on observe une recolonisation cellulaire du support. L'épithélium comporte 3 à 4 couches de cellules dont certaines sont en division. Au 7^{ème} jour de traitement, on observe au niveau du repère réalisé à l'encre de Chine, un épithélium réparé, continu, formé de plusieurs couches de cellules relativement régulières (d'aspect plus arrondi que dans le cas du Témoin), non nécrosées. On note la présence d'une zone de kératinisation dans les couches superficielles.

35 Dans le cas du traitement avec une solution saline tamponnée (PBS), on visualise au 2^{ème} jour la zone lésée marquée par une perte de substance importante au niveau de l'épithélium. Au 4^{ème} jour, l'épithélium se reconstitue, composé seulement d'une à deux couches de cellules arrondies.

Au 7^{ème} jour, l'épithélium est réparé, constitué de 5 à 6 couches de cellules, d'aspect arrondi, turgescentes pour certaines, avec la présence de vacuoles.

5 Dans les conditions expérimentales ainsi définies, la composition trophique permet la reconstitution d'un épithélium de cornée humain préalablement lésé. L'épithélium réparé est continu, vivace, pluristratifié, composé de cellules jointives et régulières.

10 L'application d'une solution saline tamponnée permet également une réparation de l'épithélium. Celui-ci n'est cependant formé que de 3 à 4 couches de cellules, témoin d'une régénération inférieure à celle observée avec la composition trophique. D'autre part, les cellules sont arrondies avec présence de nombres vacuoles.

REVENDECATIONS

1. Composition trophique en milieu aqueux comprenant une base
5 nutritive complexe, constituée, au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base excluant tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, ladite composition étant caractérisée en ce que :

- 10 - outre la base nutritive complexe, elle est constituée par un inhibiteur des collagénases de l'épithélium cornéen chez l'homme ou l'animal, et par un promoteur de la synthèse du néocollagène ;
- elle est formulée, avec la base nutritive complexe, pour établir un pH compris entre 7,3 et 7,5 et une osmolarité comprise entre 300 et 350 m
15 Osm.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est choisi dans le groupe constitué par la cystéine, la N-acétyl cystéine, et le sel de calcium de l'EDTA.

3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que
20 l'inhibiteur des collagénases est la N-acétyl cystéine.

4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases représente au maximum 5 %, et de préférence entre 0,05 et 0,5 % en poids de ladite composition.

5. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le
25 promoteur de la synthèse du néocollagène est la proline ou l'hydroxyproline.

6. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène représente au maximum 0,5 %, et de préférence 0,004 % en poids de ladite composition.

7. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle
30 comprend de l'acide hyaluronique, et/ou un sel de l'acide hyaluronique, dans une proportion pondérale totale de la composition, au plus égale à 0,1 %, et de préférence égale à 0,07 %.

8. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle
35 comprend un conservateur, dans une proportion pondérale de la composition, au plus égale à 0,0001 %.

REVENDEICATIONS

1. Composition trophique en milieu aqueux comprenant une base nutritive complexe, ladite base étant elle-même constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, à l'exclusion de tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, ladite composition étant caractérisée en ce que :
 - outre la base nutritive complexe, elle comprend un inhibiteur des collagénases de l'épithélium cornéen chez l'homme ou l'animal, et par un promoteur de la synthèse du néocollagène ;
 - elle est formulée, avec la base nutritive complexe, pour établir un pH compris entre 7,3 et 7,5 et une osmolarité comprise entre 300 et 350 mOsm.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est choisi dans le groupe constitué par la cystéine, la N-acétyl cystéine, et le sel de calcium de l'EDTA.
3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est la N-acétyl cystéine.
4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases représente au maximum 5 %, et de préférence entre 0,05 et 0,5 % en poids de ladite composition.
5. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène est la proline ou l'hydroxyproline.
6. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène représente au maximum 0,5 %, et de préférence 0,004 % en poids de ladite composition.
7. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend de l'acide hyaluronique, et/ou un sel de l'acide hyaluronique, dans une proportion pondérale totale de la composition, au plus égale à 0,1 %, et de préférence égale à 0,07 %.
8. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend un conservateur, dans une proportion pondérale de la composition, au plus égale à 0,0001 %.

REVENDECATIONS

1. Composition trophique en milieu aqueux comprenant une base nutritive complexe, ladite base étant elle-même constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, à l'exclusion de tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, ladite composition étant caractérisée en ce que :
- outre la base nutritive complexe, elle comprend un inhibiteur des collagénases de l'épithélium cornéen chez l'homme ou l'animal, et par un promoteur de la synthèse du néocollagène ;
 - elle est formulée, avec la base nutritive complexe, pour établir un pH compris entre 7,3 et 7,5 et une osmolarité comprise entre 300 et 350 m Osm.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est choisi dans le groupe constitué par la cystéine, la N-acétyl cystéine, et le sel de calcium de l'EDTA.
3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est la N-acétyl cystéine.
4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases représente au maximum 5 %, et de préférence entre 0,05 et 0,5 % en poids de ladite composition.
5. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène est la proline ou l'hydroxyproline.
6. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène représente au maximum 0,5 %, et de préférence 0,004 % en poids de ladite composition.
7. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend de l'acide hyaluronique, et/ou un sel de l'acide hyaluronique, dans une proportion pondérale totale de la composition, au plus égale à 0,1 %, et de préférence égale à 0,07 %.
8. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend un conservateur, dans une proportion pondérale de la composition, au plus égale à 0,0001 %.

REVENDICATIONS

1. Composition trophique en milieu aqueux comprenant une base nutritive complexe, ladite base étant elle-même constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, à l'exclusion de tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif thérapeutique, ladite composition étant caractérisée en ce que :
 - outre la base nutritive complexe, elle comprend un inhibiteur des collagénases de l'épithélium cornéen chez l'homme ou l'animal, et par un promoteur de la synthèse du néocollagène ;
 - elle est formulée, avec la base nutritive complexe, pour établir un pH compris entre 7,3 et 7,5 et une osmolarité comprise entre 300 et 350 mOsm.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est choisi dans le groupe constitué par la cystéine, la N-acétyl cystéine, et le sel de calcium de l'EDTA.
3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases est la N-acétyl cystéine.
4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'inhibiteur des collagénases représente au maximum 5 %, et de préférence entre 0,05 et 0,5 % en poids de ladite composition.
5. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène est la proline ou l'hydroxyproline.
6. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le promoteur de la synthèse du néocollagène représente au maximum 0,5 %, et de préférence 0,004 % en poids de ladite composition.
7. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend de l'acide hyaluronique, et/ou un sel de l'acide hyaluronique, dans une proportion pondérale totale de la composition, au plus égale à 0,1 %, et de préférence égale à 0,07 %.
8. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend un conservateur, dans une proportion pondérale de la composition, au plus égale à 0,0001 %.

9. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce que le conservateur est le polyhexanide ou polyhexaméthylène biguanide.

5 10. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle répond à la formule décrite par le Tableau 2 dans la description.

11. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, en tant que médicament, par exemple en ophtalmologie ou contactologie, chez l'homme ou l'animal.

10 12. Médicament, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, sous forme liquide, ou sous forme sèche, c'est-à-dire pour reconstitution avec un milieu aqueux.

13. Médicament sous forme liquide, pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou l'animal, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

15 14. Médicament selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'il est sous la forme de gouttes, ou de larmes régénérantes, ou de gouttes de confort, ou de collyre, ou de solution.

20 15. Solution de confort pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou chez l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

16. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour la conservation de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal.

25 17. Solution pour la conservation, le stockage, ou le transport de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

30 18. Utilisation d'une base nutritive complexe en milieu aqueux, constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base excluant tout facteur de croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif médicamenteux, en tant que médicament ophtalmologique.

9. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce que le conservateur est le polyhexanide ou polyhexaméthylène biguanide.

10. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle
5 répond à la formule décrite par le tableau suivant :

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
1	EAU	q.s.p.
2	CHLORURE DE SODIUM	6800
3	GLUTAMINE	1754,4
4	SODIUM BICARBONATE	1160
5	GLUCOSE	1080
6	ARGININE HCL	421,4
7	SODIUM ACETATE	300
8	DISODIUM PHOSPHATE	284
9	LEUCINE	131,2
10	SERINE	126,1
11	CHLORURE DE Mg	120,0
12	CHLORURE DE K	112
13	VALINE	70,3
14	SODIUM PYRUVATE	55
15	LYSINE HCL	54
16	HISTIDINE HCL	50
17	CYSTEINE HCL	42
18	ADENINE	24
19	THREONINE	24
20	CHLORURE DE Ca	20,05
21	INOSITOL	18
22	ACIDE GLUTAMIQUE	14,8
23	ASPARAGINE	14,2
24	METHIONINE	13,5
25	TYROSINE	11,7
26	PHENYLALANINE	10,0
27	TRYPTOPHANE	9,3
28	ALANINE	9,2
29	GLYCINE	7,6
30	ISOLEUCINE	6,0

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
31	ACIDE ASPARTIQUE	4,0
32	SODIUM SULFATE	3,4
33	SULFATE FERREUX	0,003
34	ACIDE FOLIQUE	0,8
35	THYMIDINE	0,73
36	CYANOCOBALAMINE	0,41
37	CALCIUM PANTOTHENATE	0,3
38	THIAMINE HCL	0,3
39	ACIDE THIOCTIQUE	0,3
40	ZINC SULFATE	0,144
41	SODIUM SILICATE	0,142
42	PYRODIXINE HCL	0,06
43	NIACINAMIDE	0,04
44	RIBOFLAVIN	0,3
45	BIOTIN	0,02
46	SULFATE DE CUIVRE	0,003
47	AMMONIUM MOLYBDATE	0,00120
48	AMMONIUM VANADATE	0,003
49	CHLORURE DE Mn	0,00002
50	HYALURONATE DE SODIUM	70
51	POLYHEXANIDE ou POLYHEXAMETHYLENE BIGUANIDE	0,1
52	N-ACETYL-CYSTEINE	500
53	HYDROXYPROLINE ou PROLINE	35

11. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10,
10 pour utilisation comme médicament, par exemple en ophtalmologie ou contactologie, chez l'homme ou l'animal.

12. Médicament, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, sous forme liquide, ou sous forme sèche, c'est-à-dire pour reconstitution avec un milieu aqueux.

13. Médicament sous forme liquide, pour application locale au
15 contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou l'animal, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

9. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce que le conservateur est le polyhexanide ou polyhexaméthylène biguanide.

10. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle
5 répond à la formule décrite par le tableau suivant :

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
1	EAU	q.s.p.
2	CHLORURE DE SODIUM	6800
3	GLUTAMINE	1754,4
4	SODIUM BICARBONATE	1160
5	GLUCOSE	1080
6	ARGININE HCL	421,4
7	SODIUM ACETATE	300
8	DISODIUM PHOSPHATE	284
9	LEUCINE	131,2
10	SERINE	126,1
11	CHLORURE DE Mg	120,0
12	CHLORURE DE K	112
13	VALINE	70,3
14	SODIUM PYRUVATE	55
15	LYSINE HCL	54
16	HISTIDINE HCL	50
17	CYSTEINE HCL	42
18	ADENINE	24
19	THREONINE	24
20	CHLORURE DE Ca	20,05
21	INOSITOL	18
22	ACIDE GLUTAMIQUE	14,8
23	ASPARAGINE	14,2
24	METHIONINE	13,5
25	TYROSINE	11,7
26	PHENYLALANINE	10,0
27	TRYPTOPHANE	9,3
28	ALANINE	9,2
29	GLYCINE	7,6
30	ISOLEUCINE	6,0

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
31	ACIDE ASPARTIQUE	4,0
32	SODIUM SULFATE	3,4
33	SULFATE FERREUX	0,003
34	ACIDE FOLIQUE	0,8
35	THYMIDINE	0,73
36	CYANOCOBALAMINE	0,41
37	CALCIUM PANTOTHENATE	0,3
38	THIAMINE HCL	0,3
39	ACIDE THIOCTIQUE	0,3
40	ZINC SULFATE	0,144
41	SODIUM SILICATE	0,142
42	PYRODIXINE HCL	0,06
43	NIACINAMIDE	0,04
44	RIBOFLAVIN	0,3
45	BIOTIN	0,02
46	SULFATE DE CUIVRE	0,003
47	AMMONIUM MOLYBDATE	0,00120
48	AMMONIUM VANADATE	0,003
49	CHLORURE DE Mn	0,00002
50	HYALURONATE DE SODIUM	70
51	POLYHEXANIDE ou POLYHEXAMETHYLENE BIGUANIDE	0,1
52	N-ACETYL-CYSTEINE	500
53	HYDROXYPROLINE ou PROLINE	35

11. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10,
10 pour utilisation comme médicament, par exemple en ophtalmologie ou
contactologie, chez l'homme ou l'animal.

12. Médicament, caractérisé en ce qu'il comprend une composition
selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, sous forme liquide, ou sous
forme sèche, c'est-à-dire pour reconstitution avec un milieu aqueux.

13. Médicament sous forme liquide, pour application locale au
15 contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou l'animal, caractérisé en ce qu'il
comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

9. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce que le conservateur est le polyhexanide ou polyhexaméthylène biguanide.

10. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle répond à la formule décrite par le tableau suivant :

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
1	EAU	q.s.p.
2	CHLORURE DE SODIUM	6800
3	GLUTAMINE	1754,4
4	SODIUM BICARBONATE	1160
5	GLUCOSE	1080
6	ARGININE HCL	421,4
7	SODIUM ACETATE	300
8	DISODIUM PHOSPHATE	284
9	LEUCINE	131,2
10	SERINE	126,1
11	CHLORURE DE Mg	120,0
12	CHLORURE DE K	112
13	VALINE	70,3
14	SODIUM PYRUVATE	55
15	LYSINE HCL	54
16	HISTIDINE HCL	50
17	CYSTEINE HCL	42
18	ADENINE	24
19	THREONINE	24
20	CHLORURE DE Ca	20,05
21	INOSITOL	18
22	ACIDE GLUTAMIQUE	14,8
23	ASPARAGINE	14,2
24	METHIONINE	13,5
25	TYROSINE	11,7
26	PHENYLALANINE	10,0
27	TRYPTOPHANE	9,3
28	ALANINE	9,2
29	GLYCINE	7,6
30	ISOLEUCINE	6,0

NBRE LIGNE	DENOMINATION INTERNATIONALE NOMENCLATURE COSMETIQUE INGREDIENT (NOM INCI)	CONCENTRATION En mg/l
31	ACIDE ASPARTIQUE	4,0
32	SODIUM SULFATE	3,4
33	SULFATE FERREUX	0,003
34	ACIDE FOLIQUE	0,8
35	THYMIDINE	0,73
36	CYANOCOBALAMINE	0,41
37	CALCIUM PANTOTHENATE	0,3
38	THIAMINE HCL	0,3
39	ACIDE THIOCTIQUE	0,3
40	ZINC SULFATE	0,144
41	SODIUM SILICATE	0,142
42	PYRODIXINE HCL	0,06
43	NIACINAMIDE	0,04
44	RIBOFLAVIN	0,3
45	BIOTIN	0,02
46	SULFATE DE CUIVRE	0,003
47	AMMONIUM MOLYBDATE	0,00120
48	AMMONIUM VANADATE	0,003
49	CHLORURE DE Mn	0,00002
50	HYALURONATE DE SODIUM	70
51	POLYHEXANIDE ou POLYHEXAMETHYLENE BIGUANIDE	0,1
52	N-ACETYL-CYSTEINE	500
53	HYDROXYPROLINE ou PROLINE	35

11. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour utilisation comme médicament, par exemple en ophtalmologie ou contactologie, chez l'homme ou l'animal.

12. Médicament, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, sous forme liquide, ou sous forme sèche, c'est-à-dire pour reconstitution avec un milieu aqueux.

13. Médicament sous forme liquide, pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou l'animal, caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

BEST AVAILABLE COPY

19

-
19. Utilisation d'une base nutritive complexe en milieu aqueux, constituée au moins par une multiplicité d'acides aminés, des vitamines, des oligo-éléments, et des sels métalliques, ladite base excluant tout facteur de
- 5 croissance cellulaire, tout extrait biologique d'origine animale ou cellulaire, et tout principe actif médicamenteux, en tant que produit pour le stockage, le transport et la mise en œuvre de pièces, par exemple lentilles de contact, destinées à venir au contact de l'œil.
-

14. Médicament selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'il est sous la forme de gouttes, ou de larmes régénérantes, ou de gouttes de confort, ou de collyre, ou de solution.

5 15. Solution de confort pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou chez l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

10 16. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour la conservation de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal.

15 17. Solution pour la conservation, le stockage, ou le transport de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

14. Médicament selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'il est sous la forme de gouttes, ou de larmes régénérantes, ou de gouttes de confort, ou de collyre, ou de solution.

5 15. Solution de confort pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou chez l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

10 16. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour la conservation de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal.

15 17. Solution pour la conservation, le stockage, ou le transport de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

14. Médicament selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'il est sous la forme de gouttes, ou de larmes régénérantes, ou de gouttes de confort, ou de collyre, ou de solution.

5 15. Solution de confort pour application locale au contact extérieur de la cornée, chez l'homme ou chez l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

10 16. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, pour la conservation de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal.

15 17. Solution pour la conservation, le stockage, ou le transport de pièces ou prothèses, par exemple lentilles de contact, agencées pour venir au contact par l'extérieur de la cornée oculaire, chez l'homme ou l'animal, caractérisée en ce qu'elle comprend une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.



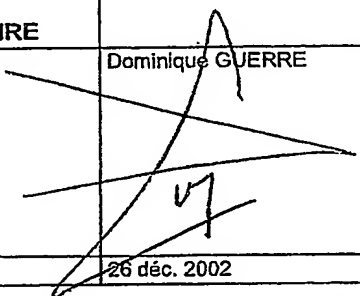
INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

BREVET D'INVENTION

Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	DOG/SL/BR041025
N°D'ENREGISTREMENT NATIONAL	0216722
TITRE DE L'INVENTION	Composition trophique en milieu aqueux, et ses applications, notamment en ophtalmologie
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	Dominique GUERRE

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	THOREL
Prénoms	Jean-Noël
Rue	3 rue La Rochelle
Code postal et ville	75014 PARIS
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	GATTO
Prénoms	Hugues
Rue	1, Rue du Plan de Castres
Code postal et ville	06570 SAINT-PAUL
Société d'appartenance	

DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE	
Signé par:	 Dominique GUERRE CPI 921104
Date	26 déc. 2002

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

PCT/FR2003/003917

